



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Nutrición

Efecto gastroprotector de la ingesta de almendra de semilla de *Cucurbita máxima Duch.* (zapallo macre) frente a la hipersecreción inducida por histamina en ratas

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición

AUTOR

Juan Carlos MOLLO URBANO

ASESOR

Oscar Gustavo HUAMÁN GUTIÉRREZ

Lima, Perú

2020



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Mollo J. Efecto gastroprotector de la ingesta de almendra de semilla de *Cucurbita máxima Duch.* (zapallo macre) frente a la hipersecreción inducida por histamina en ratas [Licenciado en Nutrición]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Nutrición; 2020.

Hoja de metadatos complementarios

- **Código ORCID del autor:** --
- **Código ORCID del asesor:** 0000-0002-6224-9165
- **DNI del autor:** 47818656
- **Grupo de investigación:** Salutaris Sibus e Plantae
- **Institución que financia la investigación:**
Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición (CIBN)
Recursos propios
- **Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación:**
Facultad de Medicina, Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición
12° 03' 28" S y 77° 01' 23" O
- **Año o rango de años que la investigación abarcó:** 2016-2020



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Medicina



Escuela Profesional de Nutrición

"Año de la Universalización de la Salud"

ACTA N° 006-2020 DE EXAMEN DE TITULACIÓN
MODALIDAD DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Conforme a lo estipulado en el artículo 45° de la Ley Universitaria 30220, el Jurado de Sustentación nombrado por el Comité de Gestión y la Dirección de la Escuela Profesional de Nutrición, conformado por los siguientes Docentes:

Presidente: Q.F. Rosa Lorenza Oriondo Gates
Miembros: Dr. Miguel Hernán Sandoval Vegas
Mg. Katya del Pilar Laos Choy
Asesor: Mg. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez

Se reunió en la ciudad de Lima, el día martes 11 de febrero de 2020, para proceder a evaluar la **Sustentación de Tesis para Optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición** del bachiller:

Juan Carlos Mollo Urbano

Código de Matrícula N° 12010584

Tesis: "Efecto gastroprotector de la ingesta de almendra de semilla de Cucurbita máxima Duch. (zapallo macre) frente a la hipersecreción inducida por histamina en ratas"

(Aprobado con RD N° 2738-D-FM-2016)

El mencionado bachiller aprueba el examen de titulación, mediante la modalidad de sustentación de tesis, obteniendo la calificación de:

..... *Dieniocho* (En letras)

Estando de acuerdo con la presente acta, el Jurado de Sustentación firma en señal de conformidad.

..... *Rosa Oriondo Gates*
Q.F. Rosa Lorenza Oriondo Gates
Presidente

..... *Miguel Hernán Sandoval Vegas*
Dr. Miguel Hernán Sandoval Vegas
Miembro

..... *Katya del Pilar Laos Choy*
Mg. Katya del Pilar Laos Choy
Miembro

..... *Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez*
Mg. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez
Asesor



DDP/

DEDICATORIA:

Este trabajo de investigación está dedicado para mis padres y hermanos quienes se han esforzado siempre y me han apoyado para que yo pueda salir adelante.

AGRADECIMIENTOS:

Muy agradecido con Dios por la familia que me ha brindado y enseñado que se puede ser feliz con tan poco y el éxito se cosecha desde abajo.

Agradezco a mis hermanos porque siempre impulsaban mis ganas de concluir este capítulo de mi extenso camino como profesional.

Agradezco a mi asesor el Dr. Oscar Gustavo Huamán Gutiérrez por su paciencia, dedicación y buen ánimo para la realización de este trabajo, además de todas las sugerencias y consejos brindados durante toda esta etapa académica.

Al centro de investigación de bioquímica y Nutrición “Alberto Guzmán Baron” de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por permitirme el uso de sus instalaciones para la ejecución de mi trabajo de investigación.

Al profesor Miguel Sandoval e Ivonne Bernui por su colaboración y motivación para la elaboración de este trabajo de investigación y formación profesional.

A mis amigos: Frank Samaniego, Yordi Santander, William Marcial, Paul Rosario, Arturo Pérez, Erika Mendoza, Carolina Milagros

A mis amigos R que siempre me han apoyado y motivado para culminar la redacción de principio a fin.

INDICE

I. INTRODUCCION	1
II. HIPOTESIS Y OBJETIVOS	8
2.1 HIPOTESIS:	8
2.2 OBJETIVOS:	8
Objetivo General:	8
Objetivos específicos:	8
III. METODOLOGIA	9
3.1 Diseño del estudio:	9
3.2 Materiales y equipos	9
3.3 Variables y definición de variables	10
3.4 Operacionalización de variables	11
3.5 Plan de procedimientos	12
Recolección y clasificación taxonómica de semilla de zapallo macre	12
Preparación de la suspensión de semilla de zapallo	12
Tamaño de muestra:	12
Condicionamiento de la unidad de análisis	12
Ejecución del modelo experimental	12
3.6 Técnicas y cuantificación de los indicadores	13
3.6 Diseño estadístico	17
3.7 Ética del estudio	17
IV. RESULTADOS	18
V. DISCUSION	22
VI. CONCLUSIONES	28
VII. RECOMENDACIONES	29
VIII BIBLIOGRAFIA	30
VIII ANEXOS	36

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 01: Volumen de jugo gástrico y valor pH según grupo de tratamiento.....	18
Tabla N° 02: Equivalente de protones y Actividad péptica en jugo gástrico según grupo de tratamiento.....	19
Tabla N° 03: Nivel de lipoperoxidación y producción de moco gástrico según grupo de tratamiento.....	20
Tabla N° 04: Niveles de Glutathión Reducido, Total y relación GSH/GSSG según grupo de tratamiento.....	21

RESUMEN

Objetivos: Evaluar el efecto gastroprotector de la ingesta de almendra de semilla de *Cucurbita maxima Duch.* (zapallo macre) frente a la hipersecreción inducida por histamina en ratas. **Materiales y Métodos:** Estudio experimental. Se emplearon 36 ratas machos distribuidas en 6 grupos (n=6). El día de ejecución se elaboró una suspensión a partir de la almendra de la semilla de *Cucurbita maxima duch.* Los tratamientos que se administraron fueron: suero fisiológico 10 mL/kg para los grupos I y II, ranitidina 50 mg/kg para el grupo III y suspensión de almendra de semilla a dosis de 200, 400 y 1000 mg/kg para los grupos IV, V y VI respectivamente. Luego de una hora se efectuó la ligadura pilórica, una hora después se administró histamina 50 µg/kg subcutáneo desde el grupo II al VI y tres horas más tarde los animales fueron sacrificados para extraer el estómago y poder evaluar los indicadores: Volumen de jugo gástrico, equivalente de protones, nivel de pH, actividad péptica, lipoperoxidación y perfil de GSH. **Resultados:** Los grupos V y VI mostraron un incremento de la relación GSH/GSSG de 263,8 y 237,5%, la producción de moco se incrementó en 77,8 y 64,8 % y se redujo la lipoperoxidación en un 44,2 y 40,4 % respectivamente el nivel de jugo gástrico se redujo en 11,6 y 27,4 %, solo el grupo VI redujo el equivalente de protones en 22,9%, la actividad péptica en 24,2% y un incremento del pH. **Conclusiones:** La ingesta de almendra de *Cucurbita maxima duch* produjo efecto gastroprotector frente a la hipersecreción inducida por histamina.

Palabras clave: *Cucurbita maxima duch*, ligadura pilórica, histamina, gastroprotector, estómago.

SUMMARY

Objectives: To evaluate the gastroprotective effect of the *Cucurbita maxima* Duch seed almond intake. (squash macre) against histamine-induced hypersecretion in rats. **Materials and Methods:** Experimental study. 36 male rats distributed in 6 groups (n = 6) were used. On the day of execution, a suspension was made from the almond of the *Cucurbita maxima* duch seed. The treatments that were administered were: physiological serum 10 mL / kg for groups I and II, ranitidine 50 mg / kg for group III and suspension of seed almonds at doses of 200, 400 and 1000 mg / kg for groups IV, V and VI respectively. After one hour the pyloric ligation was performed, one hour later, 50 µg / kg subcutaneous histamine was administered from group II to VI and three hours later the animals were sacrificed to remove the stomach and to evaluate the indicators: Volume of gastric juice, proton equivalent, pH level, peptic activity, lipoperoxidation and GSH profile. **Results:** Groups V and VI showed an increase in the GSH / GSSG ratio of 263.8 and 237.5%, mucus production increased by 77.8 and 64.8% and lipoperoxidation was reduced by 44.2 and 40.4% respectively the level of gastric juice was reduced by 11.6 and 27.4%, only group VI reduced the equivalent of protons by 22.9%, peptic activity by 24.2% and an increase in pH. **Conclusions:** The intake of the *Cucurbita maxima duch*. (macre squash) almond suspension produced a gastroprotection effect against histamine-induced hypersecretion.

Keywords: cucurbita maxima duch, suspension, pyloric ligation, histamine, gastroprotector

I. INTRODUCCION

Dentro de los trastornos que aquejan con mayor frecuencia a la población están los relacionados con la hipersecreción gástrica, que se manifiesta en diferentes procesos como la gastritis asociada al *Helicobacter pylori*, úlcera péptica, síndrome de Zollinger Ellison y el cáncer gástrico (1,2). Las frecuencias de casos por úlceras pépticas son de 4 millones en EEUU y se diagnostican 350 000 nuevos casos cada año. La hospitalización esta alrededor de 490 000 pacientes, de los cuales 3 700 pueden perder la vida a causa de una úlcera péptica (2). En Japón se estima que existen 62 casos en hombre y 26 casos en mujeres de cáncer gástrico por cada 100 000 habitantes (3).

Según el registro del Ministerio de Salud (MINSA) en el año 2011, las principales causas de morbilidad por consultorio externo en los establecimientos de salud fueron gastritis y duodenitis, con una mayor prevalencia en el género femenino (4), lo cual se asocia con frecuencia a la infección por *Helicobacter pylori*, considerado como un factor que incrementa el riesgo de desarrollo de cáncer gástrico, siendo esta la principal causa de mortalidad por cáncer en el Perú (5).

La gastritis hemorrágica se desarrolla en ciertas enfermedades y aparece en un 80-90% en pacientes hospitalizados en estado crítico, es frecuente el uso crónico de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) a partir de los 60 años, el cual acarrea una elevada sintomatología y complicaciones, como los desarrollados en el estómago o en cualquier tramo del tracto gastrointestinal (TGI), en EEUU el consumo de AINEs es responsable del 27,6% de casos de gastritis hemorrágica, con una mortalidad de 7,65% (6)(12). El estómago es una dilatación muy pronunciada del tubo digestivo que presenta tres funciones; la primera es actuar como almacén de los alimentos hasta que se procesen a través del tracto gastrointestinal (TGI), mezcla los

alimentos para formar una papilla con las secreciones gástricas (quimo), y realiza el vaciamiento del quimo al intestino delgado. Presenta una capacidad de 1,5 a 2,5 L en adultos. Anatómicamente presenta tres partes, el fondo, el cuerpo y el antro (7,8).

En el fundo y cuerpo encontramos foveolas con glándulas gástricas donde se ubican las células parietales u oxínticas que producen el HCl, las células principales secretan pepsinógeno, estimuladas por la gastrina, histamina y acetilcolina, además de las células endocrinas situadas en toda la mucosa gástrica y que sintetizan hormonas y neurotransmisores, mientras que en el antro se ubican las células G, encargadas de regular la secreción ácido mediante la gastrina (9,10).

La pared gástrica se conforma por las capas mucosa, submucosa, muscular y la serosa. La capa mucosa del estómago se compone de epitelio simple de células cilíndricas altas que forman pliegues compactos, lugar donde se encuentran las fositas gástricas que son cavidades donde desembocan las glándulas gástricas, el epitelio de las foveolas se conforma de células secretoras de moco que lubrican la superficie de la mucosa y protegen de lesión alguna. La submucosa se forma por tejido conectivo laxo, con gran número de linfocitos y células plasmáticas; presenta muchos vasos sanguíneos y linfáticos (9,11).

Por debajo de la capa submucosa se ubica la capa muscular, formada de adentro a afuera por 3 capas de musculo liso, una oblicua interna, una intermedia circular y una externa longitudinal. Entre estas dos últimas se ubican las fibras nerviosas que componen el plexo mienterico (Auerbach), los cuales disponen las contracciones gástricas mezclar el bolo alimentario con el jugo gástrico y así desplazarlo hasta el píloro mediante el peristaltismo (7,11).

La secreción de jugo gástrico depende de quimiotransmisores con acciones excitatorias e inhibitorias. La secreción gástrica presenta tres fases; la fase cefálica, se inicia en los centros cerebrales que responden a estímulos visuales, olores, sabores, entre otros, que van a preparar al estómago incluso antes de ingerir los alimentos. Esta fase se transmite al estómago por vía vagal y mediado por la liberación de la acetilcolina y péptido liberador de gastrina (GRP). La fase

gástrica o también denominada fase cuantitativa está determinada por la presencia de alimento, que estimulan los receptores químicos y mecánicos, de modo que aminoácidos y algunos péptidos estimulan la producción de gastrina, a partir de las células G. La fase intestinal añade una pequeña cantidad de secreción ácida frente al contenido de alimento en el intestino (7,3,12).

Las células G regulan la secreción de jugo gástrico por medio de la gastrina de dos maneras; la primera es a través de la estimulación de la célula parietal por medio de la liberación de histamina y la segunda por acción trófica directa sobre la célula parietal. La gastrina promueve la secreción de ácido estimulando los receptores de colecistoquinina (CKK2) presentes en las células parietales y en las células enterocromafines (ECL). La histamina es un estimulador paracrino de ácido gástrico a través de los receptores H₂ y es liberado por las células enterocromafines (ECL) de las células de la mucosa oxíntica y los mastocitos, las cuales pueden ser estimuladas por acetilcolina, gastrina y colecistoquinina (3,2,12).

A pesar del constante ataque de agentes nocivos (HCl, pepsina, ácidos biliares, etc) la mucosa gástrica presenta un mecanismo de defensa que se visualiza por tres niveles, el nivel pre-epitelial está conformado por moco y bicarbonato (HCO₃⁻), quienes forman una barrera físico química contra agentes dañinos. El nivel epitelial lo conforman las células epiteliales que brindan protección, mediante transportadores iónicos, manteniendo los niveles de pH intracelular, la producción de moco gástrico, bicarbonato (HCO₃⁻), péptidos trefoil, etc. En el nivel sub epitelial se encuentra la microvasculatura sub-epitelial con efecto gastroprotector, manteniendo el flujo sanguíneo sin interrupciones hacia las células epiteliales además transportar algunos nutrientes y desechos además de promover la producción de prostaglandinas (E2) (2,3,13).

La mucosa gástrica está compuesta por dos capas: una interna y una externa, la interna conocida como moco visible, que forma un revestimiento de consistencia gelatinosa con elevada cantidad de bicarbonato para preservar un pH neutral de 7,0, mientras que la otra capa conocida como externa o moco soluble presenta menos viscosidad porque sus moléculas de mucina carecen de enlaces disulfuro. La estabilidad del moco gástrico aumenta gracias a la presencia de

péptidos pequeños como factores trefoil que participan en la restauración de superficies mucosas induciendo a la restitución y regeneración (3,2,11).

Existen diferentes factores que afectan estos sistemas de protección, entre ellos tenemos el consumo de AINES que genera daño en la barrera gástrica por medio de la inhibición de la actividad de las cicloxigenasas (COX) 1 y 2 de la mucosa gástrica mediante la interacción con un residuo de serina específico, alterando la síntesis de prostaglandinas endógenas encargadas de mantener la homeostasis de la mucosa gástrica. Estos AINES alteran la barrera mucosa afectando a otros mecanismos como la secreción de moco y bicarbonato, permitiendo así el paso de ácido y pepsina a la superficie epitelial. Las lesiones producto de AINES son más frecuentes en la zona gastroduodenal, originándose el desarrollo de petequias, erosiones, equimosis, úlceras y hemorragias digestivas (14,15,6).

Otro factor que ha cobrado importancia en los últimos años es el agente microbiológico *Helicobacter pylori*, este microorganismo en el estómago genera una hipersecreción de ácido clorhídrico (HCl), además de disminuir la producción de somatostatina, favoreciendo la metaplasia gástrica, y a esto se le suma la estimulación de la respuesta inmune del huésped y la reducción de los factores protectores de la mucosa gastroduodenal. Entre un 60-80% de los casos de úlceras gástricas son por infección por *Helicobacter pylori*, en estos casos la formación de úlceras es producto del debilitamiento de los factores protectores de la mucosa gástrica. La reducción factores que protegen la mucosa gástrica suele ser producto del reflujo gastroduodenal debido a la presencia de: bilis, lisolecitina y jugo pancreático en su contenido, dañando así la mucosa gástrica (16,15). La úlcera se diferencia de la gastritis por la profundidad de la perforación en la mucosa, considerándose que la gastritis podría predisponer el desarrollo de úlceras (14).

Actualmente los tratamientos contra los estados hipersecretores buscan reducir la cantidad de secreción ácida, pero en esa inhibición producen efectos colaterales indeseados, debido a ello se acrecentó la búsqueda y valoración de nuevos productos naturales que contribuyan en la terapéutica de las enfermedades gastrointestinales (17).

La semilla de *Cucurbita maxima* Duch (zapallo macre) posee un alto contenido de proteínas y ácidos grasos, además de presentar fibra cruda y un contenido de cenizas, con presencia de fosfato (P), Potasio (K) y Magnesio (Mg), también contiene metionina y triptófano como aminoácidos limitantes, a ello se le suma el aminoácido cucurbitina (3-amino-3-carboxipirrolidina) al cual se le atribuye la propiedad antiinflamatoria y antiparasitaria (18)(24).

La semilla presenta alto contenido de ácidos grasos esenciales linoleico 45,5% y α -linolénico 29,5%, además de ácido palmítico 13,8% y esteárico 11,2%. Los fitoesteroles que también están presentes en la semilla producen acción hipocolesterolémica cuando se consumen de 1-3 g/día por lo que son considerados aliados frente a las enfermedades cardiovasculares, estos pueden ser β -sitoesterol y el estigmaesterol que están presentes a concentraciones de 24,9 mg/100 g y 8,4 mg/100 g de semilla, respectivamente (18,19).

El contenido de tocoferoles en las semillas de zapallo (*Cucurbita maxima*) en el extracto de aceite va desde: 27,1 a 75,1 $\mu\text{g/g}$ de aceite, el α -tocoferol 74,9 a 492,8 $\mu\text{g/g}$ de aceite, el γ -tocoferol de 39,3 a 1109,7 $\mu\text{g/g}$ de aceite, debido a esta composición las semillas de *Cucurbita maxima* presentan una elevada estabilidad oxidativa, lo que las hace apropiadas para el uso industrial y la incorporación a la dieta humana (19,18,20).

En el 2014 se realizó un estudio donde se evaluó la almendra de semilla de *Cucurbita maxima* Duch frente a la toxicidad del paracetamol en ratas, obteniéndose como resultados que a dosis de 800 mg/kg hubo protección a nivel histológico, además redujo la actividad de los marcadores enzimáticos alanina y aspartato aminotransferasa (ALT y AST) y aumento los niveles de albúmina y redujo los niveles de lipoperoxidación en el tejido hepático (21)(27).

Un estudio realizado en el 2004 con la semilla de *Cucurbita máxima* (zapallo macre) buscaba determinar el efecto antihelmíntico a partir de la concentración mínima inhibitoria (CMI), obteniéndose como resultado que a concentraciones mayores o iguales de 23 g/100 mL se observó macroscópicamente alteraciones en la motilidad helmíntica, cabe resaltar que a dosis de 9 g/kg se generó gastritis luego de cuatro horas de exposición (22).

En un estudio experimental en el 2008 por Sandoval se empleó la técnica de ligadura pilórica más histamina y se observó que la administración de *Croton palanostigma* (sangre de grado) incrementa la actividad péptica de la secreción gástrica sin generar variación del pH (23). En el 2002 Sandoval empleó la misma técnica determinando que la administración de *Croton palanostigma* (sangre de grado) induce la formación de moco sin generar variación en la secreción gástrica ni en el pH (24).

La familia *Cucurbitaceae* es un está conformado por un grupo de plantas, mayormente tropicales, conformados por 750 a 1 300 especies, correspondiente a 90 a 130 géneros, ampliamente utilizadas en la alimentación. Las especies *Cucurbita argyrosperma*, *C. ficifolia* Bouché, *C. moschata*, *C. maxima* Duchesne, y *C. pepo* fueron domesticadas por miles de años en América por los aborígenes (25). Las especies cultivadas y las nativas presentan plantas anuales, se suelen cultivar durante los climas templados, debido a que viven una temporada y perecen durante las heladas se les considero prolíficas (26,27).

Otros miembros de esta gran familia fueron nombrados por las lenguas nativas como: “calabaza”, “zapallito”, “melón”, “sandia”, “pepino”, etc. Siendo calabaza y zapallo los más divulgados, por lo general referidos a la especie *Cucurbita*, el término “calabaza” describe a los frutos de cáscara dura de las cucurbitáceas que generalmente se refieren a una especie ornamental de *Cucurbita Pepo* (27).

Las cucúrbitas son oriundo de América y abarca alrededor de 27 especies, las cuales se cultivan para el consumo de su fruto maduro o inmaduro, además se consumen las hojas, las flores y las semillas, siendo los nombres comunes en la lengua española son calabaza y zapallo (27,26).

Las cucurbitáceas presentan uno de los frutos más grandes del reino *plantae*. Algunas variedades de *C. pepo* tienen frutos que son redondos, chatos y festoneados en los bordes, *C. maxima* presenta un fruto elíptico, terminando en un pedúnculo curvo, la corteza varía entre verde, blanca, roja o anormalmente manchado o con manchas colocadas en banda (27,28).

Las semillas de *C. maxima* son grandes, chatas, ovaladas y una de las extremidades tiene terminación puntiaguda, con un peso aproximado de 50 mg

y 250 mg para cultivar frutos más pequeños y grandes respectivamente, el mayor tamaño les provee de una gran reserva cotiledonal que favorece la germinación y el establecimiento de las plántulas (26). “El embrión llena la cubierta de la semilla y las reservas se almacenan en los cotiledones en forma de lípidos, en pequeños cuerpos esféricos denominados esferosomas, y de proteínas, en orgánulos de proteínas” (29).

II. HIPOTESIS Y OBJETIVOS:

2.1 HIPOTESIS:

La ingesta de la almendra de semilla de *Cucurbita máxima* Duch. (zapallo macre) presenta efecto gastroprotector frente a la hipersecreción inducida por histamina en ratas.

2.2 OBJETIVOS:

Objetivo General:

Evaluar el efecto gastroprotector de ingesta de almendra de semilla de *Cucurbita máxima* Duch. frente a la hipersecreción inducida por histamina.

Objetivos específicos:

- Determinar el efecto de la ingesta de la almendra de semilla de *Cucurbita maxima* Duch. sobre la secreción gástrica inducida por histamina en ratas.
- Determinar el efecto de la ingesta de almendra de semilla de *Cucurbita maxima* Duch. sobre los marcadores bioquímicos en el tejido gástrico inducido a hipersecreción por histamina en ratas.

III. METODOLOGIA

3.1 Diseño del estudio:

Analítico, experimental, transversal y Prospectivo (30).

3.2 Materiales y equipos

Material biológico

Rattus Novergicus de la variedad Holtzman.

Semilla de *Cucurbita máxima* Duch. (zapallo macre)

Equipos

- Homogenizador: Ultra-Turrax; modelo: IKA-T10BASIC
- Balanza analítica: RADWG®; modelo: WTB200
- Baño María: AVALIER; modelo: VL-32
- Espectrómetro: GREETMED; modelo: NV203
- Centrífuga: GREETMED; modelo: GTT 119-300
- Potenciómetro HI 422x-02
- Estufa: Unic's®

Reactivos

- Albumina bovina “MerckGaA”
- Ácido tricloroacético “JT.Baker”
- Folin ciocalteu “Sigma Aldrich”
- Alcian Blue “MerckGaA”
- Sacarosa “Sigma Aldrich”
- Cloruro de magnesio
- Eter dietílico “MerkKGaA”
- Ácido Etilendiaminotetraacético (EDTA) “Titriplex®”

- 5,5'-ditio-bis-[ácido 2-nitrobenzoico] (DTNB) “Sigma®”
- Ácido 2-tiobarbiturico (TBA) “Merck”

3.3 Variables y definición de variables

Variable Independiente:

Almendra de semilla de *Cucurbita máxima* Duch. (Zapallo macre):

“Conformada por el endospermo y embrión de la semilla de *Cucurbita máxima* Duch, exenta de la cutícula y el epispermo de la semilla” (21).

Variable dependiente:

Efecto gastroprotector:

Reducción o inhibición del riesgo de sufrir reacciones adversas gastrointestinales (31).

3.4 Operacionalización de variables

Variables	Dimensiones	Definición operacional	Indicadores	Puntos de corte	Escala
Variable independiente Almendra de semilla de <i>Cucurbita maxima Duch.</i> (zapallo macre)	--- ---	Suspensión por trituración de las almendras en mortero, para luego añadirles agua y forman una suspensión.	Ingesta de la suspensión	Dosis: 1000 mg/kg 400 mg/kg 200 mg/kg	Numérica
Variable dependiente Efecto gastroprotector	Bioquímico	Presencia de cambios en la secreción de jugo gástrico y los indicadores bioquímicos.	Equivalente de protones en jugo gástrico (mEq-H ⁺ /L/4h)	Valores comparados con el grupo II:	Numérica
			pH en jugo gástrico		
			Actividad péptica en jugo gástrico (µg tirosina/mL/4H)		
			Nivel de lipoperoxidación en tejido (mmol/mL/g)		
			Nivel de moco en tejido (µg de Ab/mL/g)		
			Nivel de GSH y GSH total en tejido (ug/mL/g)		

3.5 Plan de procedimientos

Recolección y clasificación taxonómica de semilla de zapallo macre

Las semillas se obtuvieron en el “Mercado Universal” en el distrito de Santa Anita en el mes de enero del 2017. Una muestra del fruto y semilla fueron enviados al Museo de Historia natural de la UNMSM (ver Anexo)

Preparación de la suspensión de semilla de zapallo

La semilla de zapallo macre fue tostada en sartén con movimiento constantemente por 10 minutos. Una vez tostada la semilla se dejó enfriar durante 30 minutos, para poder retirar el epispermo y cutícula que rodea al endospermo de la semilla. Luego se trituró en un mortero de porcelana y se suspendió en agua para obtener las dosis: 200 mg/kg, 400 mg/kg y 1 000 mg/kg.

Tamaño de muestra:

Se empleó 36 ratas machos con aproximadamente dos meses de edad con un peso de 200 ± 20 g.

Condicionamiento de la unidad de análisis

Los animales se mantuvieron a una temperatura ambiental de 22°C por tres días, con ciclos luz y oscuridad de 12 horas, recibiendo dieta balanceada obtenida del Centro de Producción de la Universidad Nacional Agraria de La Molina y agua *ad libitum*, por un período de tres días de acondicionamiento.

Ejecución del modelo experimental

Los animales fueron aclimatados durante tres días y luego se distribuyeron de forma aleatoria en seis grupos (n=6) para ser sometidos a un ayuno previo de 24 horas.

Luego del ayuno, se les administró por vía orogástrica los siguientes tratamientos:

Grupo I: solución de NaCl 10 mL/kg

Grupo II: solución de NaCl 10 mL/kg

Grupo III: Ranitidina 50 mg/kg

Grupo IV: Suspensión 200 mg/kg

Grupo V: Suspensión 400 mg/kg

Grupo VI: Suspensión 1000 mg/kg

Una hora después se anestesió a los animales con vapores de éter dietílico para realizar una laparotomía abdominal y la ligar el píloro, siguiendo el modelo propuesto por Vissher y cols (32).

Transcurrida una hora de la ligadura pilórica se les administró histamina 50 µg/kg peso del animal por vía subcutánea desde el grupo II hasta el grupo VI.

Pasado cuatro horas de la ligadura pilórica se procedió a anestesiarse con pentobarbital sódico (40 mg/kg) y luego fueron sacrificados para extraer el estómago y medir el volumen de jugo gástrico. El estómago se abrió por la curvatura mayor y se seccionó dos porciones de la región glandular, los cuales fueron conservados en frío (4°C).

El jugo gástrico se centrifugó a 4 000 rpm durante 10 min, para ser utilizado en la determinación de indicadores bioquímicos (acidez total, determinación de pH y actividad péptica).

3.6 Técnicas y cuantificación de los indicadores

Determinación de equivalente de protones en el jugo gástrico

Fundamento: “Por medio de una titulación de una base (NaOH) se cuantificaron los H⁺ totales presentes en el jugo gástrico, tanto los libres (H₃O⁺) y los captados por sustancias (proteínas, fosfatos, etc.), para ello se empleó un indicador de pH (fenolftaleína)”.

Protocolo: “Se tomó 100 µL del sobrenadante del jugo gástrico y se agregó 5 mL de agua destilada, inmediatamente se mezcló por rotación, luego se añadió 12 gotas de fenolftaleína 2% y se tituló con NaOH 0,01N, los resultados fueron expresados en mEq-H⁺/L y mEq-H⁺/4h, teniendo en cuenta el volumen de jugo gástrico”.

Determinación del pH del jugo gástrico

Fundamento: “Se determinó por medio de un potenciómetro el cual capta los H⁺ libres (H₃O⁺)”.

Protocolo: “Se tomó 100 µL del sobrenadante de jugo gástrico, se agregó agua destilada a un volumen final de 10 mL, se agitó y se dejó en reposo por 10 minutos. El pH fue medido por un potenciómetro y se restó dos unidades a la lectura del equipo para registrar el valor real de pH”.

Los resultados se expresaron en % de incremento mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ Incremento de pH} = \frac{(IpHTto - IpH II)}{(IpH II)}$$

IpHTto: índice de pH del tratamiento,

IpH II: índice de pH del control.

Determinación de glutatión (GSH) y GSH Total en tejido gástrico

Se aplicó el método de Boyne y Ellman (1972) (33), “El grupo sulfhidrido del GSH reacciona con el DTNB dando un compuesto de coloración amarilla, el cual presenta una absorbancia máxima a 412 nm”.

Preparación del homogenizado: Se pesó 200 mg de la parte glandular y se homogenizó con 5 mL de EDTA helado a 20 mmol/L y se mantuvo a 4°C.

Protocolo para GSH: “Se mezcló 1 mL del homogenizado con 0,4 mL de TCA al 50% y 0,8 mL de agua. Se dejó reposar por 15 minutos, luego se centrifugó a 4000 rpm durante 15 minutos, para obtener el sobrenadante, el cual se tomó 1 mL y se añadió 2 mL de buffer TRIS pH 8,9 a 0,4 mol/L, luego se colocó en baño maría a 70°C por 10 minutos, posteriormente fue retirado para que se pudiera enfriar, a esto se añadió 50 µL de DTNB 0,01

mol/L y mezcló. La lectura de la absorbancia fue a 412 nm antes de los 5 minutos para luego ser registrado”.

Protocolo para GSH total: “Se utilizó 1 mL del homogenizado y se añadió 0,4 mL de TCA 50% y 0,8 mL agua destilada, luego se centrifugó por 15 minutos a 4000 rpm. Se tomó 1 mL del sobrenadante y se añadió 2 mL de buffer TRIS 0,4 mol/L pH 8,9 (2 mg vitamina C/ 1 mg ácido glioxílico), colocándose en baño maría a 70°C durante unos 10 minutos, luego se agregó 50 µL de DTNB 0,01 mol/L y mezcló vigorosamente. La lectura de la absorbancia fue a 412 nm antes de los 5 minutos para ser registrado posteriormente, los resultados se expresaron en mg de GSH total/mL/g de tejido”.

Determinación de niveles de lipoperoxidación en tejido gástrico

Siguiendo el método de propuesto por Buege J. Aust S. (1978) modificado por Suárez (1995) (34). “Partiendo de una reacción entre 2 moles de ácido 2-tibobartiruco y 1 mol de malondialdehído, producido a partir de la peroxidación lipídica de ácidos grasos saturados, formando un cromógeno de absorbancia máxima a los 535 nm”.

Protocolo: “Del tejido glandular se homogenizó con buffer fosfato a 10 mmol/L a pH 7,4 en una proporción de 1:10. Se tomó 0,6 mL del homogenizado y se agregó 1,2 mL de TCA al 20%, se agitó y se llevó a baño maría hirviendo por 10 minutos. Luego se enfrió y se añadió 1,8 mL de TBA 0,67% / HCl 0,25 N para llevarlo a baño maría hirviendo durante 30 minutos, posteriormente fue enfriado y centrifugado a 4000 rpm por 8 minutos y luego se leyó las absorbancias a 535 nm”.

Determinación de moco en tejido gástrico

De acuerdo al método modificado propuesto por Corner (1974) (36). “El alcian blue presenta carga positiva, el cual interactúa con los grupos oxhidrilos de la glicoproteína del moco gástrico. Para remover el moco de la capa mucosa se empleó $MgCl_2$, permitiendo el desprendimiento del moco gástrico”.

Protocolo: “La región glandular fue colocado en un recipiente con tapa y se adicionó 7 mL de alcian blue 0,2 g%, se movió de forma suave y se dejó reposar por 60 minutos, luego se eliminó el colorante. Al tejido coloreado fue lavado dos veces con 7 mL de sacarosa 0,25 mol/L. luego se eliminó la solución de sacarosa y se añadió 5 mL de $MgCl_2$ 0,5 mol/L para luego agitar de forma vigorosa. Se tomó 3 mL del contenido del frasco y se agregó 1 mL de éter dietílico para luego ser agitado y centrifugado a 4000 rpm durante 10 minutos para obtener el moco compactado y coloreado con alcian blue. Al moco compactado se añadió 5 mL de ácido acético 0,1 mol/L en etanol al 70°, se agito durante 10 segundos y luego fue centrifugado a 4000 rpm por 10 minutos. Las absorbancias fueron realizadas a 598 nm, los resultados se expresaron en μg alcian blue/mL/g de tejido”.

Determinación de la actividad péptica en jugo gástrico

Método modificado de Anson (1938) (35), “la pepsina es una proteasa que hidroliza enlaces peptídicos formados por leucina, tirosina o fenilalanina. Los productos de la hidrólisis son identificados mediante los siguientes pasos: Primero se reduce el Cu^{+2} partiendo de la formación de un complejo de Biuret entre el Cu^{+2} y el enlace peptídico. Posterior a ello se reduce el reactivo de Folin-Ciocalteau por el Cu, produciéndose un cromógeno azulado. Las cadenas laterales de algunos aminoácidos (tirosina, fenilalanina, triptófano y en menor medida cisteína e histidina) colaboran a la oxidación del reactivo de Folin-Ciocalteau”.

Protocolo: “Se incubó 200 μL de jugo gástrico con 1 mL de albúmina (5 mg/mL en HCl 0,06 N) durante 10 min, luego se añadió 1 mL de TCA 10% y posteriormente fue centrifugada por 10 minutos a 4000 rpm. Del sobrenadante obtenido se utilizó 0,5 mL y añadió 2,5 mL de Na_2CO_3 0,55 mol/L, se mezcló, posterior a ello se agregó 0,25 mL de Folin-Ciocalteu, se mezcló y se mantuvo en reposo por 30 minutos lejos de la luz, la absorbancia se leyó a 660 nm”.

3.6 Diseño estadístico

Los datos fueron ordenados y analizados para ingresarlos en el programa MS-Excel 2012 realizando pruebas descriptivas (media y desviación estándar). Para el análisis de la estadística inferencial se utilizó SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versión 20. Se aplicó la prueba de Shapiro Wilk para establecer quiénes presentaban distribución simétrica o asimétrica, para aquellos con distribución simétrica se utilizó la prueba de contraste ANOVA y post Hoc Tukey y para los asimétricos se aplicó el Test de Kruskal-Wallis, para muestras independientes, un nivel de confianza del 95%.

3.7 Ética del estudio

El desarrollo de este trabajo implicó el uso de ratas como animales de experimentación, por lo cual se tuvieron las consideraciones éticas respectivas basándonos en dos de las tres R (principio de reducción y principio de refinamiento) de la experimentación humanizada con animales propuesta por Russel y Burch (1959) (36). Y respetando la Ley N°30407 “Ley de protección y bienestar animal” promulgada el 8 de enero del 2016 (37).

IV. RESULTADOS

4.1 Secreción del jugo gástrico y pH en jugo gástrico:

Se observó en el grupo II un incremento del volumen del jugo gástrico y una disminución del pH comparado con el grupo I.

El grupo que recibió ranitidina (grupo III) presentó una inhibición de la secreción del jugo gástrico (43,5%) y un mayor nivel de pH ($p < 0,01$) respecto al grupo II.

El tratamiento con la suspensión de almendra de *Cucurbita máxima* Duch a diferentes dosis (200 mg/kg; 400 mg/kg y 1000 mg/kg) inhibió la secreción del jugo gástrico en 0,3%, 11,6% y 27,4% respectivamente, esta tendencia también se observa en el incremento del pH del jugo gástrico.

Tabla N°01: Volumen de jugo gástrico y valor pH según grupo de tratamiento

GRUPO	Vol. Jugo* (mL)	% de inhibición de secreción	pH°
GRUPO I	8,1 ± 1,65	-----	1,4 ± 0,10
GRUPO II	9,8 ± 1,96	-----	1,2 ± 0,18
GRUPO III	5,5 ± 2,03 ^(a)	43,5%	2,0 ± 0,42 ^(b)
GRUPO IV	9,7 ± 1,88	0,3%	1,2 ± 0,09
GRUPO V	8,6 ± 1,45	11,6%	1,4 ± 0,03
GRUPO VI	7,1 ± 1,44	27,4%	1,4 ± 0,11

Shapiro-Wilk ($p > 0,05$)- ANOVA-Post Hoc

Media ± DE

(a) $p < 0,05$ respecto al grupo II

°Kruskall wallis ($p > 0,05$)

Mediana ± DE

(b) $p < 0,01$ respecto al grupo II

4.2 Producción de equivalente de protones (H⁺) y actividad péptica en jugo gástrico:

La administración de histamina (grupo II) indujo una mayor secreción de equivalente de H⁺ y un mayor nivel de actividad péptica respecto al grupo I, sin ser significativo.

En el grupo III (administración de ranitidina + histamina) el nivel de equivalente de protones en cuatro horas expresó una inhibición del 73%, respecto al grupo II ($p < 0,05$) y la actividad péptica, expresado en cuatro horas, fue del 20,9% respecto al grupo II.

La administración de la suspensión de *Cucurbita máxima* Duch a diferentes dosis (200 mg/kg; 400 mg/kg y 1000 mg/kg) produjo una menor producción de equivalente de protones en -14,4%; 4,2% y 22,9% respectivamente, esta tendencia también se observó en la actividad péptica expresada en cuatro horas.

Tabla N°02: Equivalente de protones y Actividad péptica en jugo gástrico según grupo de tratamiento

GRUPO	Equivalente de protones en 4h mEq/L	% de inhibición	Actividad péptica (4h) en jugo gástrico (μ g tirosina/mL)	% de inhibición
GRUPO I	0,8 \pm 0,22	-----	24,1 \pm 10,49	-----
GRUPO II	1,2 \pm 0,36	-----	28,6 \pm 3,88	-----
GRUPO III	0,3 \pm 0,11 ^(a)	73,0 %	20,9 \pm 11,08	20,9%
GRUPO IV	1,4 \pm 0,31	-14,4%	25,1 \pm 5,87	12,2 %
GRUPO V	1,1 \pm 0,24	4,2%	26,4 \pm 8,32	7,8 %
GRUPO VI	0,9 \pm 0,22	22,9%	21,7 \pm 3,08	24,2 %

Shapiro-Wilk ($p < 0,05$)-ANOVA-Post Hoc

Media \pm DE

a) $p < 001$ respecto al grupo II

4.3 Niveles de Lipoperoxidación y moco en tejido gástrico

En el grupo II (histamina) produjo un mayor nivel de la lipoperoxidación y menor producción de moco comparado con el grupo I.

El tratamiento previo de ranitidina (grupo III) presentó una inhibición de la lipoperoxidación (59,68%) ($p < 0,01$) e incremento de moco gástrico (84,4%) ($p < 0,05$) respecto al grupo II.

Los niveles de lipoperoxidación en los grupos que recibieron la suspensión de almendra a las dosis de 200; 400 y 10000 mg/kg, presentaron inhibición de 26,1%; 44,2% y 40,4% respectivamente, siendo a la dosis de 1000 mg/kg

(grupo VI) el que presentó $p < 0,01$, mientras que el porcentaje de incremento de moco gástrico fue de -21,0%; 77,8% y 64,8% respectivamente sin ser significativo.

Tabla N°03. Nivel de lipoperoxidación y producción de moco gástrico según grupo de tratamiento

GRUPOS	°Lipoperoxidación (mmol/mL/g de tejido gástrico)	% de inhibición	*Niveles de moco gástrico (ug de Alcian blue/mL/g de tejido gástrico)	% de incremento de moco gástrico
GRUPO I	19,5 ± 5,03	-----	261,9 ± 69,04	-----
GRUPO II	26,0 ± 6,93	-----	168,0 ± 137,37	-----
GRUPO III	10,5 ± 4,28 ^(b)	59,7 %	309,9 ± 79,61 ^(a)	84,4 %
GRUPO IV	19,2 ± 7,94	26,1 %	132,8 ± 22,08	-21,0 %
GRUPO V	14,5 ± 4,37	44,2 %	298,8 ± 74,12	77,8 %
GRUPO VI	15,5 ± 4,16 ^(b)	40,4%	276,9 ± 79,98	64,8 %

*Shapiro-Wilk ($p > 0,05$)

Media ± DE

a) $p < 0,05$ respecto al grupo II

°Kruskall wallis ($p > 0,05$)

Mediana ± DE

b) $p < 0,01$ respecto al grupo II

4.4 Perfil de glutatión en tejido gástrico:

La administración en el grupo II que solo recibió Histamina produjo un menor nivel de GSH, GSH total y de la relación de GSH/ GSSG comparado con el grupo I.

La administración de ranitidina (grupo III) mostró un mayor nivel de GSH, GSH total ($p < 0,01$) y relación GSH/GSSG (138,8%) comparado con el grupo II.

La administración de almendra de *Cucurbita máxima* duch presentó un mayor nivel de GSH y GSH total. En las tres dosis administradas esta tendencia también se evidenció en la relación GSH/GSSG, obteniéndose porcentajes de incremento de 121,3%; 263,8% y 237,5% respectivamente, siendo significativo para la dosis de 400mg/kg y 1000mg/kg.

Tabla N°04. Niveles de Glutación Reducido, Total y relación GSH/GSSG según grupo de tratamiento

GRUPOS	Nivel de GSH* en tejido gástrico (ug/mL/g de tejido gástrico)	Nivel de GSH total* en tejido gástrico (ug/mL/g de tejido gástrico)	Relación° GSH/GSSG	% de incremento
GRUPO I	14,7 ± 3,90	19,0 ± 5,07	3,9 ± 2,10	-----
GRUPO II	7,9 ± 3,15	14,8 ± 3,19	0,8 ± 0,50	-----
GRUPO III	14,7 ± 2,92 ^(a)	23,6 ± 3,85 ^(a)	1,9 ± 1,09	138,8 %
GRUPO IV	10,4 ± 1,01	16,1 ± 1,93	1,8 ± 0,30	121,3 %
GRUPO V	8,7 ± 4,60	11,6 ± 6,00	2,9 ± 0,84 ^(b)	263,8 %
GRUPO VI	11,6 ± 3,24	16,0 ± 4,27	2,7 ± 0,66 ^(b)	237,5 %

*Shapiro-Wilk (p>0,05)- ANOVA-Post Hoc

Media ± DE

a) p<0,01 respecto al grupo II

°Kruskall wallis (p>0,05)

Mediana ± DE

b) p<0,01 respecto al grupo II

V. DISCUSION

Actualmente hay una creciente tendencia hacia una alimentación saludable, motivo por el cual los consumidores demandan mayor cantidad de productos naturales y funcionales, debido a los beneficios adicionales que pueden brindar a la salud. El uso de estos recursos es muy antiguo y se han transmitido por vía oral a través de generaciones, sin embargo, la carencia de un lenguaje gráfico en el antiguo Perú ocasionó la distorsión o pérdida de esta información en el transcurso del tiempo.

En este contexto, es fundamental la generación del conocimiento que se orienten al desarrollo y valorización de estos tipos de alimentos, no solo para responder a las demandas de valor y calidad de los consumidores sino también para contribuir con la salud de la población.

En el grupo II tras la administración de histamina 50 µg/kg de peso produjo a nivel de la secreción gástrica un mayor volumen de jugo gástrico, de equivalente de protones totales, actividad péptica total y menor nivel de pH mientras que en el tejido gástrico se observó menor nivel de moco gástrico, perfil de GSH y mayor nivel de lipoperoxidación.

Los niveles de volumen gástrico, pH y equivalente de protones totales guarda relación con la actividad de la histamina, quien activa los receptores H_2 de la membrana de las células parietales para incrementar la secreción de jugo gástrico por activación de la bomba de H^+/K^+ , (38,39) dicha bomba intercambia con el lumen gástrico K^+ por H^+ , a la vez que se activa esta bomba, se activan también los canales de Cl^- que acompañan al H^+ segregado (38,40) incrementando de esta forma la especie ácida protón (H^+) y con ello una caída del pH del jugo gástrico, tal como se observa en el grupo II.

La continua secreción de ácido gástrico en el tracto digestivo puede ocasionar procesos inflamatorios y lesiones ulcerosas, producto de una filtración de los H^+ por un cambio de Na^+ celular, disminuyendo el pH intracelular, generando de esta forma procesos de injuria y posterior muerte celular (41).

La técnica de ligadura pilórica produce un incremento de la secreción de ácido gástrico durante un período de 4 a 6 horas, esta respuesta podría deberse a reflejos vago-vagales activados por medio de receptores de presión que se localizan en la glándula pilórica (42,43) produciendo también la retención de pepsina y HCl los cuales son los principales causantes de ulceraciones, sumándose algunos trastornos vasomotores provocados por el trauma pilórico. (44). La actividad de la pepsina se da en un medio ácido (pH entre 1,5-2,0) (44) el cual es muy próximo al pH observado en el grupo II (pH =1,2), por tanto podría justificar el mayor nivel de actividad péptica reportado en este mismo grupo. Este incremento de actividad péptica causaría una mayor hidrólisis de la mucosa lo cual guarda relación con el menor nivel de moco gástrico en el grupo II.

También se ha observado que la ligadura pilórica es capaz de promover la filtración de neutrófilos, los cuales son medidos por la actividad de la mieloperoxidasa (MPO), estas células sanguíneas pueden generar radicales por medio de la NADP oxidasa produciendo anión superóxido (O_2^-), que es dismutado por la superóxido dismutasa (SOD) produciendo peróxido de hidrogeno (H_2O_2) (45,46) el que en presencia de Fe^{+2} genera radical oxidrilo (OH^*) (46) el cual ataca a los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) sustrayendo un átomo de hidrogeno de su cadena, transformando al ácido graso en radical ácido graso, iniciando el proceso de lipoperoxidación (47). Esto podría explicar los valores altos de dialdehídos que reaccionan con el ácido 2-tiobarbiturico (TBARS) relacionado con la peroxidación lipídica en el grupo II.

La disminución del perfil de GSH del grupo II podría estar relacionado con el aumento de peróxidos lipídicos en la mucosa gástrica. El GSH se oxida a GSSG por acción del glutatión peroxidasa (GP_x) disminuyendo la relación GSH/GSSG (47). Esta relación en condiciones fisiológicas es mayor a 100 por ello en presencia del estrés oxidativo podría disminuir, afectando el estado redox celular, lo cual se relaciona alterando el equilibrio de la diferenciación, proliferación y muerte celular (48). Se ha evidenciado que la técnica de ligadura pilórica también afecta los niveles de GSH y lipoperoxidación el cual es dependiente del tiempo de ejecución de la técnica (45).

Algunos de estos resultados observados en el grupo II fueron reportados por Arroyo en el 2013 al aplicar una dosis de histamina de 50 µg/kg al grupo control observándose un volumen de jugo gástrico mayor y pH menor a los demás grupos (44). Esta tendencia también fue reportada por Sandoval en 2008 respecto a la secreción del jugo gástrico y pH, además el autor reportó una mayor actividad péptica (49).

Callohuari en el 2018 reportó en un modelo de investigación similar al nuestro que el nivel de lipoperoxidación de su grupo control fue mayor respecto a los demás grupos con tratamiento experimental, mientras que la producción de moco gástrico fue menor (50) este resultado sobre un producción de moco también fue reportado por Huamán 2007 , al igual que un menor nivel de GSH del grupo control respecto a los demás grupos (51).

El tratamiento previo con Ranitidina (grupo III) a dosis de 50 mg/kg de peso produjo un menor volumen de jugo gástrico, al igual que equivalente de protones totales, actividad péptica total y lipoperoxidación. También se observó mayor nivel de pH, producción de moco, nivel de GSH, GSH total y de la relación de GSH/ GSSG.

Los resultados observados en el grupo III puede estar relacionado con la acción antagónica que ejerce la ranitidina al bloquear los receptores H₂ de la histamina en las células parietales, inhibiéndolas selectiva y competitivamente (52) disminuyendo de esta forma la secreción de HCl (53,52).

En diversos estudios se ha reportado que los bloqueadores de receptores H₂ de la histamina además de reducir la secreción de ácido gástrico y pepsina también presentarían capacidad antioxidante contra las especies reactivas producidas por los neutrófilos (54). Ching et al 1994 determinó que los bloqueadores de los receptores H₂ presenta capacidad antioxidante frente al ácido hipocloroso (HClO) (55) Dicha capacidad antioxidante se otorga al azufre que se encuentra en su estructura (55) esto podría estar relacionado con los niveles altos de perfil de GSH y bajo nivel de lipoperoxidación en el grupo III.

A nivel de la mucosa gástrica se ha determinado que la ranitidina es capaz de inhibir la liberación de elastasa de los neutrófilos y expresión de las moléculas

de adhesión, reduciendo así la filtración de dicha célula en el endotelio, evitando de esta forma la generación de injuria gástrica (56).

Matias M. determinó que la ranitidina presentaba propiedades regenerativas a nivel de la mucosa gástrica frente a las ulceraciones (52) además Konturek SJ reportó que los bloqueadores de receptores H_2 como la ranitidina tenían propiedades citoprotectoras equiparables a las prostaglandinas (PG) en el tejido gástrico frente a las lesiones ulcerosas (57). Esto podría relacionarse con la preservación de la mucosa gástrica del grupo III

En un modelo experimental similar al nuestro en 1997 Badilla B. y cols. emplearon ranitidina de 50 mg/kg en ratas, reportando así menor nivel de acidez y actividad péptica además de mayor nivel del GSH y moco gástrico, con una tendencia similar a la de nuestro estudio (58) de la misma forma Sandoval en 2006 reportó un nivel de pH mayor y un incremento en la producción de moco gástrico en el grupo que fue tratado ranitidina (23).

En los grupos tratados con suspensión de almendra de semilla de *Cucurbita máxima* Duch “zapallo macre” los resultados fueron menor volumen de jugo gástrico, equivalente de protones, menor actividad péptica, menor nivel de lipoperoxidación y mayores niveles de pH, de moco gástrico, de GSH, de GSH total y relación GSH/GSSG.

En estudios fitoquímicos realizados en las semillas de *Cucurbita máxima duch* han reportado el contenido de ácidos grasos esenciales (linoleico y α -linolénico), fitoesteros (β -sitoesterol), ácidos fenólicos, flavonoides (rutina), carotenoides (β -caroteno), vitamina E (α -tocoferol y γ -tocoferol), triterpenoides (cucurbitacina A y B), minerales (Zinc, Selenio), los cuales son componentes con capacidad antioxidante (59,20,60,61,19).

El mayor perfil de GSH en los grupos tratados con suspensión de almendra de semilla podría deberse a la presencia de β -caroteno, esta sustancia, además de tener actividad antioxidante, puede influir en el sistema de defensa antioxidante endógeno. Signh et al en el 2002 reportó el efecto protector gástrico del β -caroteno frente a las lesiones gástricas por indometacina; Aysin y cols. en el 2013 indicó que el β -caroteno es capaz de preservar enzimas antioxidantes

(SOD, GPx y GSH) frente al estrés oxidativo en tejido gástrico (62,63), Además, el β -caroteno es capaz de inhibir la activación del factor de transcripción sensible a oxidantes, factor nuclear kappa B (NF- κ B), y por lo tanto podría suprimir la expresión de la interleucina IL-8 en las células de tejido gástrico (64,65) protegiendo así la integridad del tejido gástrico.

Otra sustancia que también puede estar involucrada en la defensa antioxidante es el selenio, que es capaz de incorporarse a la estructura de la enzima glutatión peroxidasa (GPx) contribuyendo así al mecanismo antioxidante (60), Canoruc N. et al en 2001 y Sadau Y. et al en 2015 reportaron que la administración de selenio contribuyó a la reducción de peroxidación de lípidos previniendo de esta forma el daño tisular, pero que este efecto protector fue mayor en compañía de la vitamina E, (66,67,68) La relación entre las concentraciones de las formas reducida y forma oxidada GSH/ GSSG brindan un perfil del estado redox para el tejido, que en condiciones normales debería estar por encima de 100, pero que en presencia de stress oxidativo se produciría una acumulación de GSSG provocando cambios que afectarían el balance de la proliferación, diferenciación y muerte celular (69,70) ello podría relacionarse con los niveles elevados de perfil de GSH observado en los tratamientos con suspensión de almendra.

Se ha evidenciado que la administración vitamina E es capaz de mantener los niveles de antioxidantes endógenos (GSH, SOD) en modelos de lesiones gástricas, mejorando así la integridad de la mucosa gástrica. (71,72) Además la vitamina E podría estimular la síntesis de prostaglandina (PGE2) al activar la enzima fosfolipasa A2 (71,73). Se ha demostrado también que β y γ tocoferoles pueden inhibir actividades de la 5-lipoxigenasa (5-LOX) que cataliza la síntesis de leucotrienos (LT), limitando así los posibles síntomas inflamatorios en la mucosa gástrica (72), esto podría relacionarse con algunos resultados de los grupos IV-VI, como mayor nivel de moco, menor nivel de acidez (Equivalente H^+), menor nivel de jugo gástrico, lo mismo que conllevaría a un descenso del pH, afectando así la actividad de la pepsina.

El contenido de ácidos grasos esenciales como ácido α -linolénico (ω -3) y ácido linoleico (ω -6) son precursores de eicosanoides importantes en tracto gastrointestinal, como el ácido eicosapentanoico (EPA) y ácido araquidónico

(AA) respectivamente. Los ácidos grasos omega 3 tienen propiedades antiinflamatorias debido a su capacidad de inhibir interleucinas proinflamatorias como IL-1, IL-6, IL-12, TNF- α y prostaglandinas proinflamatorias (74), mientras que el ácido araquidónico promueve la síntesis de prostaglandina E2 (PGE2) el cual estimula la síntesis y secreción de moco y bicarbonato (74,72). Por ello los niveles elevados de moco gástrico podrían deberse al contenido de ácidos grasos ω -3 y ω -6 en la suspensión usada para los tratamientos.

En algunos estudios se indicó que la semilla de *Cucurbita máxima* Duch contiene triterpenoides como cucurbitacinas A y B, estas sustancias poseen efectos antioxidantes y antiinflamatorios debido a que la cucurbitacina B podría relacionarse con la inhibición de eicosanoides, alterando así la síntesis de leucotrienos (75), además que podría inhibir la COX-2 (76).

La semilla de *Cucurbita máxima* presenta ácidos fenólicos (protocatechuico, caffeico, sirigico, vanílico, p-cumarico y ferúlico) (61). Dentro de los principales efectos destaca su capacidad de prevenir la peroxidación lipídica, captando radicales libres (60,77,78,79). La presencia de flavonoides otorga una protección contra la mucosa gástrica (80) la rutina es un glucósido flavonoide que otorga un potencial antioxidante al inhibir la infiltración de neutrófilos, además puede aumentar la actividad de cNOS mejorando el flujo sanguíneo de la mucosa (81,82) esto se relacionaría con los niveles altos de mucosa gástrica en los grupos tratados con suspensión.

La presencia de Zinc otorga propiedades antioxidantes a la suspensión, pues se ha reportado que el zinc protege a los grupos sulfhidrilos contra la oxidación e inhibe la producción de ROS por parte de metales de transición (83,84), mejorando así el mecanismo antioxidante endógeno y así posiblemente reduciendo los niveles de lipoperoxidación en los tratamientos con suspensión.

Una de las circunstancias que pudo limitar el desarrollo de esta investigación fue el costo elevado de los reactivos, situación que se pudo superar gracias al apoyo del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de la UNMSM.

VI. CONCLUSIONES

- ✓ La ingesta de almendra de semilla de *Cucurbita maxima* Duch (zapallo macre) incrementó el nivel de moco gástrico, perfil de GSH y redujo el nivel de lipoperoxidación, mostrando mejores resultados a las dosis de 400 mg/kg y 1000 mg/kg
- ✓ La ingesta de almendra de semilla de *Cucurbita maxima* Duch (zapallo macre) produjo una disminución en el volumen de jugo gástrico, el equivalente de protones y la actividad péptica e incremento el nivel de pH, mostrando mejores resultados a las dosis de 400 mg/kg y 1000 mg/kg.
- ✓ La ingesta de almendra de semilla de *Cucurbita maxima* Duch (zapallo macre) ejerció un efecto gastroprotector frente a la hipersecreción inducida por histamina en ratas

VII. RECOMENDACIONES

- Determinar el efecto protector de la almendra de *Cucurbita maxima* duch sobre los cambios histológico en el tejido gástrico.
- Determinar el efecto gastroregenerador de la almendra de semilla de *Cucurbita maxima* duch. (zapallo macre)
- Determinar la capacidad antioxidante de la almendra de semilla de *Cucurbita maxima* duch. (zapallo macre)
- Determinar el contenido de flavonoides en la almendra de semilla de *Cucurbita maxima* duch. (zapallo macre)

VIII BIBLIOGRAFIA

1. Arredondo A, Amores J. La hipersecreción ácida en la práctica médica: un reto al médico práctico. 2008.
2. Garibay RR. Guías clínicas de diagnóstico y tratamiento de la enfermedad por úlcera péptica. Revista de gastroenterología de México. 2009 Abril; 74(2).
3. Hunt H. Guías prácticas de la Organización Mundial de Gastroenterología: *Helicobacter pylori* en los países en desarrollo. Gastroenterología latinoamericana. 2010; 21(2).
4. Epidemiología MdSDGd. Análisis de situación de salud en el Perú, Lima Perú. 2013 Setiembre.
5. (MINSA) MdS. Análisis de situación de cáncer en el Perú, Lima-Perú. 2013 Noviembre.
6. Ayala AEG. Problemas relacionados con la Hipersecreción acida. Elsevier. ; 29(1).
7. Espinoza ES. Fisiología de los aparatos y sistemas; 2006.
8. Pacheco MM. Atlas de Histología vegetal y animal, Sistema Digestivo, Departamento de biología celular y ciencias de la salud Vigo.
9. Romero JO, Cadena oF. Sistema nervioso entérico y motilidad gastrointestinal. Acta Pediatr Mex. 2012; 33(2).
10. Cienfuegos A. Secreción gástrica e inhibidores de la bomba de protones. Asociaciones Colombianas de Gastroenterología, Endoscopia digestiva, Coloproctología y Hepatología. 2010 Marzo; 25(1).
11. Casasola LD. Mucosa gástrica: mecanismos protectores y efectos dañinos del ácido acetilsalicílico. Enfoques fisiológico y bioquímico. Revista de medicina e investigación. 2015; 3(1).
12. Santoyo R. Gastropatía por AINE. Revista Medica del Hospital General. 2001 Junio; 64(1).
13. Casasola LD. Mucosa gástrica: mecanismos protectores y efectos dañinos del ácido acetilsalicílico. Enfoques fisiológico y bioquímico. Elsevier: Medicina e investigación. 2015; 3(1).
14. Huaman O. Efecto antiulceroso del extracto alcohólico hidroalcoholico liofilizado de hojas de Bixa Orellana (achiote) en ratas. Anales de la Facultad de Medicina. 2009 Junio.
15. F E. Úlcera péptica e infección por *Helicobacter pylori*. Revista de gastroenterología de México. 2015 Agosto; 80.
16. Camacho JE. Ulcera peptica. REVISTA MEDICA DE COSTA RICA Y CENTROAMERICA LXXI. 2014.
17. Correa S. Efecto de *Tessaria integrifolia* R. et p. sobre úlceras gástricas inducidas en *Rattus rattus* var. *albinus*.. Farmaciencia. 2014; 2(1).

18. Martinez A. Efecto del tostado en el desarrollo de una pasta untable de semillas de zapallo (*Cucurbita maxima* Duch.). Facultad de ciencias Químicas y Farmaceuticas. 2014.
19. Muchirah PN, Waihenya R, Muya S. Characterization and anti-oxidant activity of *Cucurbita maxima* Duchesne pulp and seed extracts. The journal of phytopharmacology. 2018 Marzo; 7(2).
20. Peninah Njoki Muchirah RWSM. Characterization and anti-oxidant activity of *Cucurbita maxima* Duchesne pulp and seed extracts. The Journal of phytopharmacology. 2018 Marzo; 7(2).
21. Caballero J. Efecto Hepatoprotector de la almendra de semillas de *cucurbita maxima* (zapallo macre) en ratas. Facultad de Medicina Humana San Fernando. 2014.
22. Obregon D. Ensayo preclínico de *cucurbita maxima* (semilla de zapallo) un antiparasitario en zonas urbano rurales. Rev. Gastroenterológica Perú. 2004.
23. Sandoval M. Inducción de la formación de moco gástrico por sangre de grado (*croton palanostigma*). Anales de la Facultad de Medicina Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2006; 63(4).
24. Sandoval M. Inducción de la formación de moco gástrico por sangre de grado (*Croton palanostigma*)*. Anales de la Facultad de Medicina Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2002; 63(4).
25. Montes Ly. GENETICS AND GENOMICS OF CUCURBITACEAE Grumet R, Ktzir N, Garcia J, editors.: SPRINGER; 1994.
26. Salama A. Las cucurbitaceas, importancia económica, bioquímica y medicinal.. Universidad Nacional de Colombia. 2006.
27. Delgado G. Caracterización de algunos frutos y semillas de cucurbitáceas en el costa norte de Perú. Revista Fitotec. 2014; 37(1).
28. Whitaker T, Davis G. Agromorphological, chemical and biochemical characterization of pumkin (*Cucurbita maxima* and *Cucurbita moschata*, cucurbitaceae) morphotypes cultivated in Cameroon, Cucurbits; botany, cultivation and utilization, Leonard Hill. 1962.
29. Delia P. Manual de cultivo de zapallo Anquito (*Cucurbita moschata* duch.), Ediciones INTA. 2013. .
30. Argimon J. Metodos de investigacion clinica y epidemiologica. 4th ed.; 2013.
31. HOLLANDER D, TARNAWSKI A. The Role of Essential Fatty Acids in Gastric and Duodenal Protection and Ulcer Therapy. M. J. Collen et al. ed.; 1991.
32. FE V, PH S. PHARMACOLOGY OF PAMINE BROMIDE. journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.. 1954 Febrero; 110(2).

33. Bejar E. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de jungia paniculata (d.c) A. Gray "matico serrano" en un modelo de daño gástrico en ratas inducido por etanol 70% [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2016.
34. J. Buege SA. Microsomal Lipid Peroxidation. Methods Enzymol. 1975.
35. Anson L. The estimation of pepsin, trypsin, papain and catepsin with hemoglobin. .
36. Mancio A, F.Chiarotti. Mancio A, Chiarotti F, Vitale A, Calamandrei G, Laviola G, Alleva E. The application of Russell and Burch 3R principle in rodent models of neurodegenerative disease: The case of Parkinson's disease.. Neuroscience & Biobehavioral Reviews. 2009; 33(1).
37. P. Legislativo. Ley N°30407 "Ley de proteccion y bienestar animal". Diario EL Peruano. 2016 Enero.
38. Rodriguez D, Alfaro A. Actualización de la fisiología gástrica. Medicina Legal de Costa Rica. 2010 Setiembre; 27(2).
39. Lanás A. Trastornos relacionados con la secreción gástrica ácida. Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Aparato Digestivo; 2012.
40. Cienfuegos A. Secreción gástrica e inhibidores de bomba de protones. Revista colombiana de gastroenterología. 2010 Marzo; 25(1).
41. Samaniego F. Efecto gastroprotector del zumo de hojas de Spinacia oleracea “espinaca” frente a la hipersecreción inducida por histamina en ratas. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela profesional de Nutrición. 2019.
42. Alumets J. GASTRIC ACID RESPONSE TO PYLORUS LIGATION IN RATS: IS GASTRIN OR HISTAMINE INVOLVED? In ; 1982. p. 145-156.
43. Pober Z. An explanation of gastric hypersecretion in the pylorus-ligated rat. Archives of Physiology and Biochemistry. 1999; 107(5).
44. Arroyo J. EFECTO GASTROPROTECTOR Y ANTISECRETOR DE UN FITOFÁRMACO DE HOJAS DE MATICO (Piper aduncum). Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2013; 30(4).
45. Rastogi L. Free radicals and antioxidant status following pylorus ligation induced mucosal injury in rats. Pharmacological Research. 1998 Mayo; 38(2).
46. Bravo M, Ortega AL. Radicales Libres e inflamación. Gaceta de ciencias veterinarias. 1998; 4(2).
47. Kwiecien S. Lipid peroxidation, reactive oxygen species and antioxidative factors in the pathogenesis of gastric mucosal lesions and mechanism of protection against oxidative stress-induced gastric injury. Journal of physiology and pharmacology. 2014; 65(5).
48. Cisneros R, Ore R, Arnao I, Suarez S. Relación de glutatión reducido/oxidado (GSH/GSSG) en ratas diabéticas tratadas con maca (Lepidium meyenii walp). Anales de Facultad de Medicina. 2011; 72(2).

49. Sandoval M, Ayala S, Ore R. Estimulación de la actividad péptica del jugo gástrico, inducido por latex de croton palanostigma (sangre de grado). Anales Facultad de Medicina. 2008; 69(3).
50. Callohuari R. Efecto gastroprotector y capacidad antioxidante del extracto acuoso de las vainas de *Caesalpinia espinosa* "Tara", en animales de experimentación. Anales de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2017; 78(1).
51. Huaman O, Arnao I, Bejar E. Efecto del extracto hidroalcoholico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote), en la secreción gastrica de ratas. Anales de la Facultad de Medicina Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2007; 68(4).
52. Matias M, QF B. Efecto de *Solanum Tuberosum* en lesiones gastricas de *rattus rattus* comparado con ranitidina. NATURA Medicatrix. 1999 Abril;(53).
53. Mamani C. EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIULCEROSO Y TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO AL 70 % DE LA CORTEZA DE *Triumfetta bogotensis* (RATA- RATA) EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. 2017.
54. Ching TL, RMM G. CIMETIDINE AND OTHER H₂ RECEPTOR ANTAGONISTS AS POWERFUL HYDROXYL RADICAL SCAVENGERS. Elsevier scientific Publisher ireland Ltd. 1993 Febrero; 86.
55. Ching TL. Structural characteristics of histamine H₂ receptor antagonists that scavenge hypochlorous acid. European Journal of Pharmacology. 1994 Febrero.
56. Okajima K. Inhibition of neutrophil activation by ranitidine contributes to prevent stress-induced gastric mucosal injury in rats. Crit Care Med. 2000; 28(8).
57. SJ. K. Pubmed.gob. [Online].; 1981 [cited 2019 Setiembre 15. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6112791>.
58. Badilla B. Actividad gastrointestinal del extracto acuoso bruto de *Quassia amara* (Simarubaceae). Biologia Tropical. 1998 Junio; 46(2).
59. Nishimura M. Pumpkin Seed Oil Extracted From *Cucurbita maxima* Improves Urinary Disorder in Human Overactive Bladder. Journal of Traditional and Complementary Medicine. 2014; 4(1).
60. Eraslan G. The Antioxidant Effects of Pumpkin Seed Oil on Subacute Aflatoxin Poisoning in Mic. Environmental Toxicology. 2011.
61. Md PM. Overview on *Cucurbita Maxima* Seed. Journal of Dental and Medical Sciences. 2017 Marzo; 16(3).
62. P. S, K. B. EFFECT OF MELATONIN AND BETA-CAROTENE ON INDOMETHACIN. Indian J Physiol Pharmacol. 2002; 46(2).
63. Akinci A, Esrefoglu M. Melatonin is more effective than ascorbic acid. Experimental Research. 2013 Setiembre; 5.

64. Kang H. Astaxanthin and β -carotene in Helicobacter pylori-induced Gastric Inflammation: A Mini-review on Action Mechanisms. JOURNAL OF CANCER PREVENTION. 2017 Junio; 22(2).
65. Kim Y. β -Carotene and Lutein Inhibit Hydrogen Peroxide Induced Activation of NF- κ B and IL-8 Expression in Gastric Epithelial AGS Cells. J Nutr Sci Vitaminol (Tokio). 2011; 57(3).
66. Canoruc N. Protective Effects of Vitamin E Selenium and Allopurinol Against Stress-induced Ulcer Formation in Rats. Turk J Med sci. 2001; 31.
67. Y. S. Role of Selenium and Vitamin E on Gastric Mucosal Damage Induced By Water-Immersion Restraint Stress in Wistar Rats. Journal of Pharmacy and Biological Sciences. 2015 Febrero; 10.
68. Surai PF. Selenium-Vitamina E interactions: does 1+1 equal more than 2? In ; 2003. p. 13.
69. Sarrasague MM, Barrado DA. Conceptos actuales del metabolismo del glutatión Utilización de los isótopos estables para la evaluación de su homeostasis. Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana. 2006; 40(1).
70. Roca EGR. Efecto del extracto acuoso de la papa nativa Solanum tuberosum “puca simi” sobre enzimas de detoxificación de fase II en un modelo de hiperbilirrubinemia. 2015.
71. Fesharaki M. Reactive oxygen metabolites and anti-oxidative defenses. Pathophysiology. 2006; 13.
72. Khémiri I, Bitri L. Effectiveness of Opuntia ficus indica L. inermis Seed Oil in the Protection and the Healing of Experimentally Induced Gastric Mucosa Ulcer. Hindawi. 2019.
73. Ibrahim IAA, Yusof K. Protective effect of palm vitamin E and α -tocopherol against gastric lesions induced by water immersion restraint stress in Sprague-Dawley rats. Indian Journal of Pharmacology. 2008 Abril; 40(2).
74. Ianiro G. Omega-3 fatty acids: a novel resort against gastrointestinal injury. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2014; 18.
75. Miró M. Cucurbitacins and their Pharmacological Effects. PHYTOTHERAPY RESEARCH. 1994 Abril; 9.
76. Jayaprakasam B. Anticancer and antiinflammatory activities of cucurbitacins from Cucurbita andreana. Cancer Letters. 2003 Julio; 189.
77. SahilKakkar , SouravhBais. A Review on Protocatechuic Acid and Its Pharmacological Potential. ISRN Pharmacology. 2014 Marzo.
78. Alam A. Anti-Hypertensive effect of cereal antioxidant ferulic acid and its mechanism of action. Frontiers of nutrition. 2019 Agosto; 6.
79. Cikman O, Soylemez O, Ozkan OF. Antioxidant Activity of Syringic Acid Prevents Oxidative Stress in L-arginine-Induced Acute Pancreatitis: An Experimental Study on Rats. Int Surg. 2015.

80. Mota KSdL, Dias GEN, Pinto MEF. Flavonoids with Gastroprotective Activity. *Journals Molecules*. 2009; 14.
81. Beil W. Efectos de los flavonoides sobre la secreción de ácido de las células parietales, la producción de prostaglandinas de la mucosa gástrica y el crecimiento de *Helicobacter pylori*. *Arzneimittelforschung*. 1995 Junio; 45(6).
82. Abdel-Raheem. Gastroprotective Effect of Rutin against Indomethacin-Induced. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. 2010 Enero; 107.
83. Zheltova AA. Magnesium deficiency and oxidative stress: an update. *Biomedicine*. 2016 Diciembre; 6(4).
84. Powell SR. Zinc and Health: Current Status and Future Directions. *American Society for Nutritional Sciences*. 2000.

VIII. ANEXOS

Anexo I

Clasificación taxonómica



"Año de la Universalización de la Salud"

CONSTANCIA N° 041-USM-2020

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fruto con semillas), recibida de **Juan Carlos Mollo Urbano**, estudiante de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos- Escuela Profesional de Nutrición; ha sido estudiada y clasificada como ***Cucurbita máxima*** (DUCHESNE) DELILE; y tiene la siguiente posición taxonómica; según el Sistema de Clasificación de APG IV (2016).

ORDEN: CUCURBITALES

FAMILIA: CUCURBITACEAE

GENERO: *Cucurbita*

ESPECIE: *Cucurbita máxima* (DUCHESNE) DELILE

Nombre vulgar: "zapallo macre"

Determinado por: Dra. Joaquina Albán Castillo

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 12 de febrero de 2020



Dra. Joaquina Albán Castillo
JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

JAC/ddb